DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی

بررسی تکوین میکروگامتوفیت و مگاگامتوفیت در *Ageratum houstonianum* Mill

زهرا بقایی فر[1*]، سید ابراهیم حسینی نیا[1]، عاطفه مهرافزا[1]، لیلا خدائی[2] و فاطمه غدیرپور[1]

[1] **ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی**

[2] **ایران، تهران، دانشگاه پیام نور، گروه کشاورزی**

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۱۴

چکیده

بررسی تکوین دانه گرده و تخمک در گیاه *Ageratum houstonianum* که از اهداف این پژوهش است، می‌تواند الگوی مناسبی برای گونه‌های دارای گل‌آذین کپه‌ای باشد. بدین منظور، گل‌ها و غنچه‌ها در مراحل مختلف نمو برداشت شده، در FAA_{70} تثبیت و در الکل ۷۰ درصد نگهداری شدند. نمونه‌ها پس از قالب‌گیری در پارافین، با ضخامت ۵-۷ میکرومتر با میکروتوم برش‌گیری شدند و رنگ‌آمیزی با ائوزین و هماتوکسیلین انجام شد. لام‌های تهیه شده با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی و عکس‌برداری قرار گرفتند. نتایج نشان داد گلچه‌های دوجنسی شامل پنج پرچم با میله‌های آزاد و جدا از هم هستند. بساک از نوع تتراسپورانژی و تکوین دیواره بساک از نوع دولپه‌ای است و از یک لایه اپیدرم، لایه مکانیکی، یک لایه میانی و لایه تاپی تشکیل شده است. لایه مغذی آن از نوع آمیبی است و آرایش تترادهای میکروسپور از نوع تتراهدرال می‌باشد. دانه‌های گرده در زمان انتشار دارای سه منفذ رویشی با تزئینات سوزنی‌شکل هستند. تخمک از نوع واژگون، تک‌پوسته‌ای و کم-خورش است. تقسیمات سلول مادر مگاسپور از هر دو نوع عرضی و طولی مشاهده شد که منجر به تشکیل تترادهای خطی و توده‌ای می‌شود. نمو کیسه رویانی براساس الگوی تک‌اسپوری و تیپ پلی‌گونوم واقعی در تصاویر دیده نشد. هشت سلول همردیف دیده شدند. براساس این پژوهش، کریستال در لایه مکانیکی، سلول‌های دیواره اپیدرم تخمک، مشاهده شد که از خصوصیات این گونه است. همچنین اپیدرم ترشحی کرک‌مانند در بخش درونی گلبرگ، کرک‌های تک‌رشته‌ای و تک‌سلولی در سطح بیرونی گلبرگ مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، تاپی، تخمک، مگاسپورزایی، میکروسپورزایی، *Ageratum houstonianum*

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۳۲۵۴۶۷۳۰ ، پست الکترونیکی: Z_baghaeifar@pnu.ac.ir

مقدمه

خانواده گیاهی کاسنی با نام‌های علمی Compositae، Composae، Asteraseae و Synantherea بزرگ‌ترین تیره گیاهی دولپه‌ای‌ها به شمار می‌رود (۸). از مشکلات عمده آرایه‌شناختی در این تیره ارتباط بین سرده‌ها، طایفه‌ها و همچنین وجود گونه‌های پلی‌مورف است (18). گیاهان این خانواده توزیع جهانی داشته، در مناطق معتدل و حاره-ای پراکنده‌اند (۱). پراکنش جهانی، سرده‌ها و گونه‌های فراوان این تیره که شامل تعداد زیادی گونه گیاه باارزش صنعتی، غذایی و دارویی است، این تیره را موضوع مطالعات متعددی نموده است (29). جنس *Ageratum* متعلق به تیره آفتاب‌گردان (Asteraseae) می‌باشد (۳). *Ageratum houstonianum* گیاهی زینتی است که به دلیل وجود انواع فلاونوئیدها و آلکالوئیدها و نیز چربی‌های ضروری، دارای اهمیت دارویی است (۳). انواع فلاوون‌های چندزیرواحدی و پلی‌متوکسی فلاوون‌ها، در این گیاه شناسایی شده‌اند (25). چهار نوع آلکالوئید پیرولیزیدین از این گیاه جدا شده است که احتمالاً کاندیدای مناسبی برای مطالعات داروسازی هستند (۴۲). این گیاه دارای گل‌های

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی

پرزدار به رنگ‌های آبی، صورتی، ارغوانی، بنفش و سفید و ساقه‌ای پوشیده از کرک‌های متراکم محافظ و ترشحی است. اپیدرم در هر دو سطح برگ‌ها کرک‌دار و حاشیه برگ‌ها دندانه‌دار است (۳). این گیاه بومی آمریکای مرکزی و جنوبی بوده و جهت کاربردهای زینتی به ایران صادر شده است و معمولا در حاشیه و لبه‌های باغچه‌ها یا پارک-ها و..... کاشته می‌شوند (۳).

مطالعات تکوینی و رویان شناختی محدودی در این تیره انجام شده است. از جمله بررسی‌های صورت گرفته در این زمینه می‌توان به مطالعه میکروسپورزایی و مگاسپورزایی در گیاه شکر تیغال *Echinopsilicifolius* (۴) مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Anthemis odontosteph ana Boiss. Cv.* (۵) و رویان شناختی در *Ageratum Conyzoidesl* و *Ageratum Fastigiatum* (۱۶) اشاره کرد.

زیست‌شناسی تکوینی تولیدمثلی که بررسی مراحل مختلف تکوین گل یعنی اندام‌زایی و تکوین پرچم، دانه گرده، مادگی، تخمک و کیسه رویانی را شامل می‌شود، اخیراً به طور چشمگیری مورد توجه قرار گرفته است (۱). مطالعات متعدد هسته شناسی، سلول شناسی و شیمی گیاهی در این آرایه صورت گرفته است (11 و 28)، اما با وجود این، به نظر می‌رسد مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی محدودی در این تیره انجام شده است؛ بنابراین هنوز انجام مطالعات جدید تکوینی برای افزایش دانش و آگاهی درباره گیاهان این تیره ضروری است (27). همچنین پیش‌بینی می‌شود، مطالعات تکوینی و رویان‌شناختی در کنار سایر مطالعات بتوانند در حل مشکلات آرایه‌شناختی این گروه نیز همانند سایر تیره‌های گیاهی استفاده شوند (20).

براساس مطالعات رویان‌شناختی محدودی که در این تیره انجام شده است، ویژگی‌های استثنایی و نادری از قبیل: وجود پدیده Nemec یعنی تشکیل ساختارهایی شبیه به کیسه رویانی در دانه گرده (۹ و 13)، افزایش یاخته‌های قرینه (سینرژیدها) در کیسه رویانی (12 و22)، افزایش یاخته‌های آنتی‌پود (17و 26)، تکوین کیسه ۴ یاخته‌ای (14) و وجود آپومیکسی (11) گزارش شده است. طبق بررسی-های مرجع‌شناختی ما، تاکنون مطالعه رویان‌شناختی در این گونه انجام نشده است. هدف از این پژوهش، بررسی مراحل تکوینی گامتوفیت نر و گامتوفیت ماده به عنوان الگویی از گل‌آذین‌های کپه‌ای در تیره مرکبان بود.

مواد و روشها

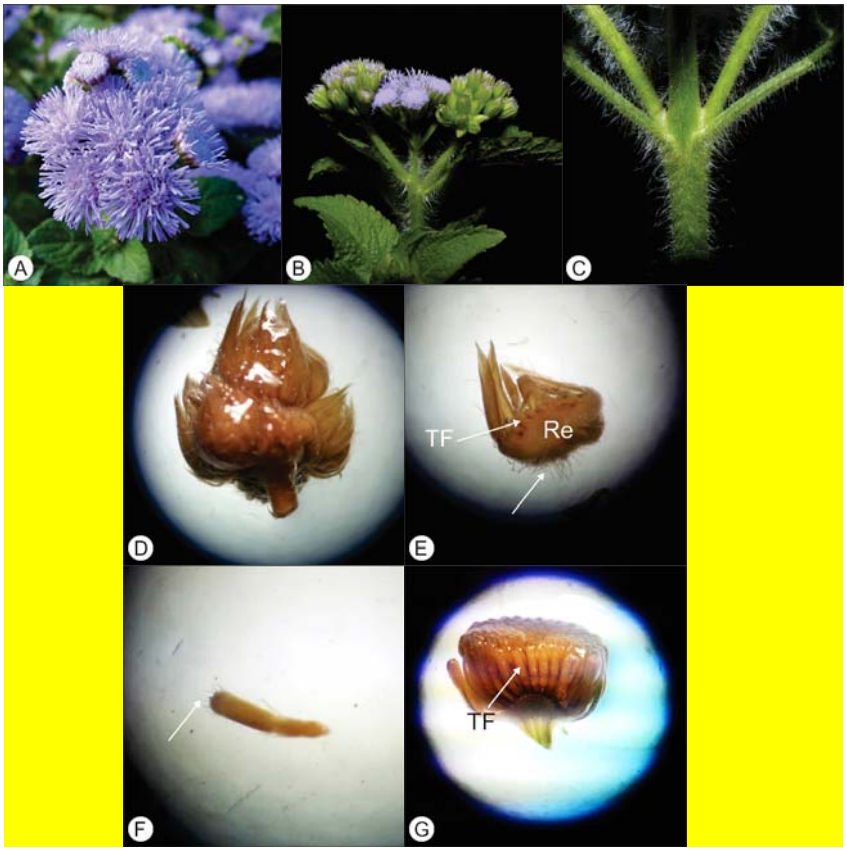
بمنظور مطالعه رویان‌شناختی در *A.houstonianum*، غنچه-ها در مراحل مختلف نموی، از پارک‌ها و فضای سبز شهر همدان جمع‌آوری شدند و جهت تثبیت در محلول فیکساتور FAA قرار داده شده و پس از شستشو در الکل۷۰٪ نگهداری شدند. بمنظور آماده کردن نمونه‌ها جهت برش‌گیری، آبگیری از نمونه‌ها توسط درجات افزایشی الکل (۳۰، ۵۰، ۷۰، ۸۰، ۹۰ و ۱۰۰) صورت گرفت. شفاف‌سازی نمونه‌ها با درجات مختلف مخلوط الکل و تولوئن (۱/۴، ۲/۴، ۳/۴ و ۴/۴) انجام شد.

سپس نمونه‌ها پارافین‌دهی و قالب‌گیری شده و با روتاری میکروتوم مدل DS 4055 با ضخامت ۷-۵ میکرومتر برش‌گیری شدند. بمنظور رنگ‌آمیزی برش‌ها، لام‌های مورد نظر پارافین‌زدایی شده و سپس لام‌ها با عبور از الکل‌هایی با درجات کاهشی، آب‌دهی شدند. رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین (رنگ‌آمیزی هسته) و ائوزین (رنگ‌آمیزی سیتوپلاسم) طبق روش Yeung (۱۹۸۴) انجام شد (30). بعد از این مرحله، نمونه‌ها با عبور از الکل‌های ۹۰ و ۱۰۰ آبگیری شده و در نهایت چند دقیقه داخل تولوئن قرار داده شدند. سپس لام‌ها به وسیله چسب انتالن لامل‌گذاری شدند. لام‌های آماده‌شده توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفتند و مراحل مختلف تکوین دانه گرده و تخمک، توسط دوربین دیجیتال مدل LABOMED LX 500 عکس‌برداری شد.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی

نتایج

گیاه *A.houstonianum* علفی، یک‌ساله و زینتی است. گل-های این گیاه پرزدار به رنگ‌های آبی، صورتی، ارغوانی، بنفش و سفید می‌باشد. گل‌آذین این گیاه مانند گل‌آذین در سایر گیاهان تیره آفتابگردان، از نوع کپه و پرزدار است و شامل گلچه‌های لوله‌ای (زایا) و فاقد گلچه زبانه‌ای می-باشد (تصویر A). تمام قسمت‌های هوایی این گیاه شامل برگ‌ها، کاسبرگ‌ها، ساقه و غنچه‌ها با کرک‌های بسیار نرم و ظریفی پوشیده شده است (تصاویر B، C و E). غنچه نابالغ، با کرک‌های نرم و ظریف قابل مشاهده می‌باشد (تصویر E). گلچه لوله‌ای، با کرک‌های نرم و ظریف قابل تشخیص است (تصویر F). غنچه در مرحله رشد و شکوفایی و گلچه‌های نمو یافته کاملاً قابل تشخیص هستند (تصویر G).



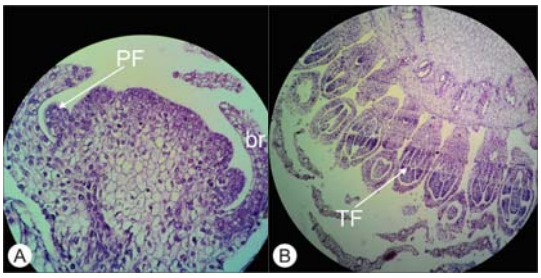
تصویر ۱- گیاه *Ageratum houstonianum* مشاهده‌شده توسط استریومیکروسکوپ، ابژکتیو×۴۰

A) گل‌آذین کپه و پرزدار است. B) تمام قسمت‌های هوایی گیاه با کرک‌های نرم و ظریفی پوشیده شده است. C) ساقه با کرک‌های متراکم پوشیده شده است. D) غنچه‌های گل با کرک‌های نرم و ظریفی پوشیده شده است. E) غنچه جوان و گلچه‌های لوله‌ای (↑) و کرک‌ها قابل تشخیص هستند. F) گلچه لوله‌ای و کرک‌های نرم و ظریف قابل تشخیص هستند. G) غنچه در حال شکوفایی و گلچه‌های نمو یافته (↑) قابل تشخیص هستند. H) میوه فندقه و کاسبرگ‌های براکته‌مانند قابل مشاهده است. مخففها: Re: نهنج، TF: گلچه لوله‌ای.

تکوین مریستم زایشی و تبدیل به اجزاء گل در گیاه *Ageratum houstonianum* : مشاهدات میکروسکوپی غنچه‌های گل و برش‌های طولی آنها در مراحل مختلف تکوینی نشان می‌دهد که در نتیجه تقسیمات شعاعی تونیکا و مماسی در کورپوس، مریستم در مقایسه با حالت رویشی حجیم‌تر شده، و سطح مریستم افزایش یافته و بر تحدب مریستم افزوده شده است. در نتیجه تقسیم سلول‌های تونیکا و کورپوس، مریستم بارده یا هاگ‌زا حاصل می‌شود. به علت

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2

تقسیمات و تمایز سلول‌ها، در ناحیه باقیمانده حلقه بنیادی در حاشیه مریستم براکته‌ها تشکیل شده‌اند. پریموردیوم‌های گلچه‌ای که حاصل تسهیم مریستم هاگزای (مریستم بارده) به سهم‌های گلچه‌ای هستند، با تمایز و تکوین آکروپتال در حال تشکیل هستند (تصویر A). در مراحل تکوینی پیشرفته‌تر در هر پریموردیوم گلچه، فرورفتگی‌ای ایجاد شده که در پیرامون آن ابتدا جام گل بنیانگذاری و سپس بخش‌های زایشی به روش به سوی مرکز تمایز می‌یابند (تصویر B).



تصویر۲- تکوین مریستم زایشی و تبدیل به اجزاء گل در گیاه *Ageratum houstonianum*

A) **برش** طولی مریستم زایشی در مرحله تسهیم به مریستم‌های گلچه-ای (↑) و براکته‌ها قابل تشخیص هستند. B) برش طولی بخشی از گل‌آذین کپه و شکل‌گیری گلچه‌ها (↑) و اجزای آنها روی نهنج، قابل تشخیص می‌باشد. مخفف‌ها: TF: گلچه لوله‌ای، br: براکته، PF: پریموردیم گلچه‌ای.

تکوین پرچم، بساک و دانه گرده در *Ageratum houstonianum* : پرچم‌ها، ابتدا به صورت برجستگی‌های کوچک مریستمی روی نهنج و در زیر پوشش گلبرگ‌ها پدیدار می‌شوند و سپس به سرعت رشد و نمو می‌یابند (تصویرA). تعداد پرچم‌ها در گونه مورد بررسی پنج عدد است که به صورت جدا از هم و با آرایش چرخه‌ای روی یک دایره قرار گرفته‌اند و استوانه‌ای را در اطراف خامه تشکیل می‌دهند (تصویر B). بساک از نوع تتراسپورانژی (چهار کیسه گرده‌ای) است (تصویر C). هر میکروسپورانژ در ابتدای نمو، از یک گروه یاخته‌های زیر اپیدرمی به نام آرکئوسپور متمایز می‌شود و برای تشکیل یاخته‌های بیرونی (جداری) و داخلی (هاگزا) به صورت مماسی تقسیم می-شود (تصویر D). به دنبال تقسیمات مماسی یاخته‌های لایه جداری، ساختار چهارلایه‌ای دیواره میکروسپورانژ یا کیسه گرده به وجود می‌آید که این لایه‌ها از سمت خارج به داخل شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و لایه مغذی (تاپی) با یاخته‌های تک‌هسته‌ای هستند، اما تمایز چندانی میان یاخته‌های تشکیل‌دهنده این لایه‌ها دیده نمی‌شود. هر یک از چهار لایه مذکور صرفاً از یک ردیف یاخته تشکیل شده‌اند (تصویر E). بافت احاطه‌کننده بساک (اپیدرم)، اگزوتسیوم نیز نامیده می‌شود (تصویر E). به تدریج و با ورود یاخته‌های مادر میکروسپور به میوز، یاخته‌های لایه مغذی متمایز شده و به صورت یاخته‌هایی بزرگ با سیتوپلاسم متراکم دیده می‌شوند، اما در سه لایه دیگر تغییری دیده نشد. و این لایه‌ها همچنان بدون تمایز و مشابه یکدیگرند. یاخته‌های تاپی اغلب تک‌هسته‌ای هستند که این یاخته‌ها بافت هاگزای بساک را در بر می‌گیرند. یاخته‌های لایه تاپی در این گونه، بیضی و تا حدی دوکی هستند. با توجه به اندازه هسته به نظر می‌رسد این یاخته‌ها پلی‌پلوئیدی بالایی را نشان می‌دهند که برای متابولیسم آنها ضروری است. همچنین یاخته‌های تاپی به علت نقش مغذی، بیشترین رنگ‌پذیری را نسبت به سایر یاخته‌های دیواره بساک دارند. از آنجایی که در برخی از نمونه‌های مورد مشاهده، یاخته‌های لایه تاپی در مراحل ابتدایی نمو بساک شروع به حرکت به داخل حفره بساک می‌کنند و در آنجا با یاخته‌های در حال تقسیم و نمو تماس مستقیم پیدا می‌کنند، بنابراین می‌توان گفت لایه تاپی در این گونه، از نوع پلاسمودیومی است که این حالت از شروع تلوفاز I دیده می‌شود (تصویر H). همچنین در زمان رها شدن میکروسپورها از تتراد نیز در لابه‌لای آنها شروع به تحلیل رفتن می‌کنند (تصویر J)، به طوری که زمانی که دانه‌های گرده دویاخته‌ای تشکیل می‌شود، آنها کاملاً تجزیه شده‌اند. به دنبال تقسیمات میتوزی در توده یاخته‌های آرکئوسپور، این یاخته‌ها مستقیماً به میکروسپوروسیت یا یاخته‌های مادر دانه گرده تمایز می‌یابند. میکروسپوروسیت‌ها با سیتوپلاسم

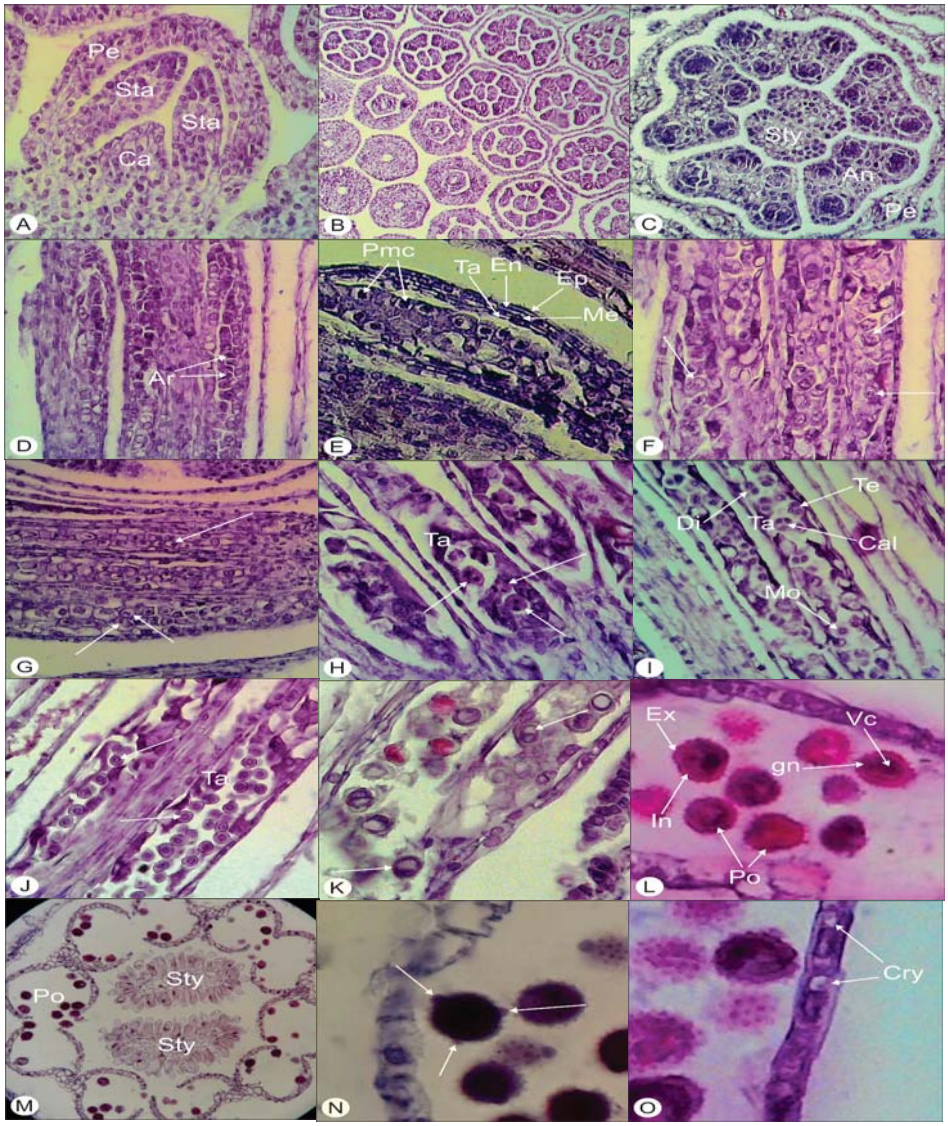
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی

متراکم، اندازه بزرگ و هسته‌های درشت با رنگ‌پذیری بالا از یاخته‌های مجاور متفاوت می‌شوند (تصویر E). در طی فرایند میکروسپورزایی، تقسیم میوز با تشکیل دیواره ویژه با ماهیت کالوزی در اطراف یاخته‌های میکروسپوروسیت آغاز می‌شود. هر یاخته مادر گرده (میکروسپوروسیت) در طی میوز از مراحل پروفازI (تصویر F)، متافازI (تصویرG)، تلوفازI (تصویر H)، پروفاز II، متافاز II، آنافاز II و تلوفاز II، منجر به تشکیل تترادهای میکروسپوری که بیشتر از نوع تتراهدرال (چهارضلعی) هستند، می‌شود (تصویرI). بین هسته‌های حاصل از مرحله تلوفاز I، دیواره‌ای تشکیل نمی‌شود و سیتوکینز از نوع همزمان است که پس از پایان تلوفاز II رخ می‌دهد. لایه کالوزی لابه‌لای موناد‌ها، دیادها و اطراف تترادها به وضوح قابل تشخیص است (تصویر I).

میکروسپورها در دو بساک مجاور همدیگر از نظر نموی تقریباً همزمان هستند. همزمان با تحلیل رفتن لایه کالوزی، یاخته‌های تشکیل‌دهنده تتراد از هم جدا می‌شوند و میکروسپورها آزاد می‌گردند که در زمان آزاد شدن هنوز واکوئله نبوده و دارای سیتوپلاسم متراکم، هسته حجیم و شکل منظم هستند و تغذیه آنها توسط لایه تاپی انجام می‌گیرد (تصویر J). میکروسپورها واکوئله شده و هسته آنها به کناری رانده می‌شود و اگزین شروع به تکوین می‌نماید (تصویر K). نمو میکروسپور با انجام یک تقسیم میتوز کامل می‌شود، به این صورت که تقسیم نامساوی موجب تشکیل دو یاخته متفاوت از نظر عملکردی و ریختی می‌شود: یک هسته بزرگ رویشی و یک هسته کوچک زایشی که منجر به تشکیل دانه گرده بالغ می‌شود. اطراف میکروسپورهای رها شده از پوشش کالوزی توسط دیواره اگزین در بر گرفته می‌شود. دیواره پکتوسلولزی دیگری به نام انتین در مجاورت سیتوپلاسم شکل می‌گیرد. شکل نهایی دانه گرده بالغ در گیاه ابری، کروی است (تصویر L). بلوغ دانه‌های گرده با شکل‌گیری تزئینات اگزین و تشکیل خارها به اتمام می‌رسد که در این حالت لایه تاپی کاملاً تحلیل رفته است (تصویر L). همزمان با تکوین دانه گرده، دیواره بساک به ویژه لایه مکانیکی متحمل تغییراتی می‌شود، بدین ترتیب که لایه مکانیکی تکامل می‌یابد و ضخیم‌شدگی‌های فیبری در مرحله دانه‌های گرده دو یاخته‌ای دیده نشد و یاخته‌ها هنوز زنده‌اند (تصویرO). در مرحله بلوغ دانه‌های گرده، لایه مکانیکی به رشد و ضخیم شدن خود ادامه می‌دهد، سرانجام یاخته‌های آن می‌میرند و با شکافته شدن این لایه به دانه‌های گرده اجازه پراکندگی داده می‌شود (تصویر M). دانه‌های گرده بالغ دارای سه منفذ رویشی برای خروج لوله‌های گرده هستند (تصویر N). از ویژگی‌های شاخص این گونه گیاهی، وجود کریستال در لایه مکانیکی است (تصویرO). از ویژگی‌های گیاه مورد مطالعه، تنوع در یاخته‌های حاصل از میوز است، به طوری که حتی در یک بساک و کیسه گرده وجود همزمان تتراد، دیاد و موناد قابل رویت است (تصویر I).

تکوین مادگی، تخمک و گامتوفیت ماده در *Ageratum houstonianum* : همزمان با تشکیل پریموردیوم پرچم، توده مریستمی مرکزی جهت تشکیل مادگی شکل می‌گیرد (تصویر A). تکوین پرچم و مادگی تقریبا همزمان است؛ به طوری که قبل از تکوین پرچم پریموردیوم تخمکی قابل تمایز می‌باشند (تصویر B). مادگی این گونه گیاهی، تک‌برچه‌ای است. سطح خارجی توده سلولی سازنده مادگی به وسیله اپیدرم که از تحولات لایه سطحی تونیکایی به وجود می‌آید، پوشیده شده است. کمی بعد از طرح اولیه، مادگی طویل و کشیده می‌شود و نهایتاً به سه بخش تمایز می‌یابد؛ یک بخش گلابی‌شکل که حفره تخمدان نامیده می‌شود و تخمک در آن تمایز می‌یابد. یک بخش به نام خامه که در گونه مورد مطالعه، همزمان با تشکیل پریموردیوم تخمکی تمایز می‌یابد و تک توخالی دوشاخه است (تصویر B) و یک نوع بافت ترشحی که کلاله نامیده می‌شود.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی



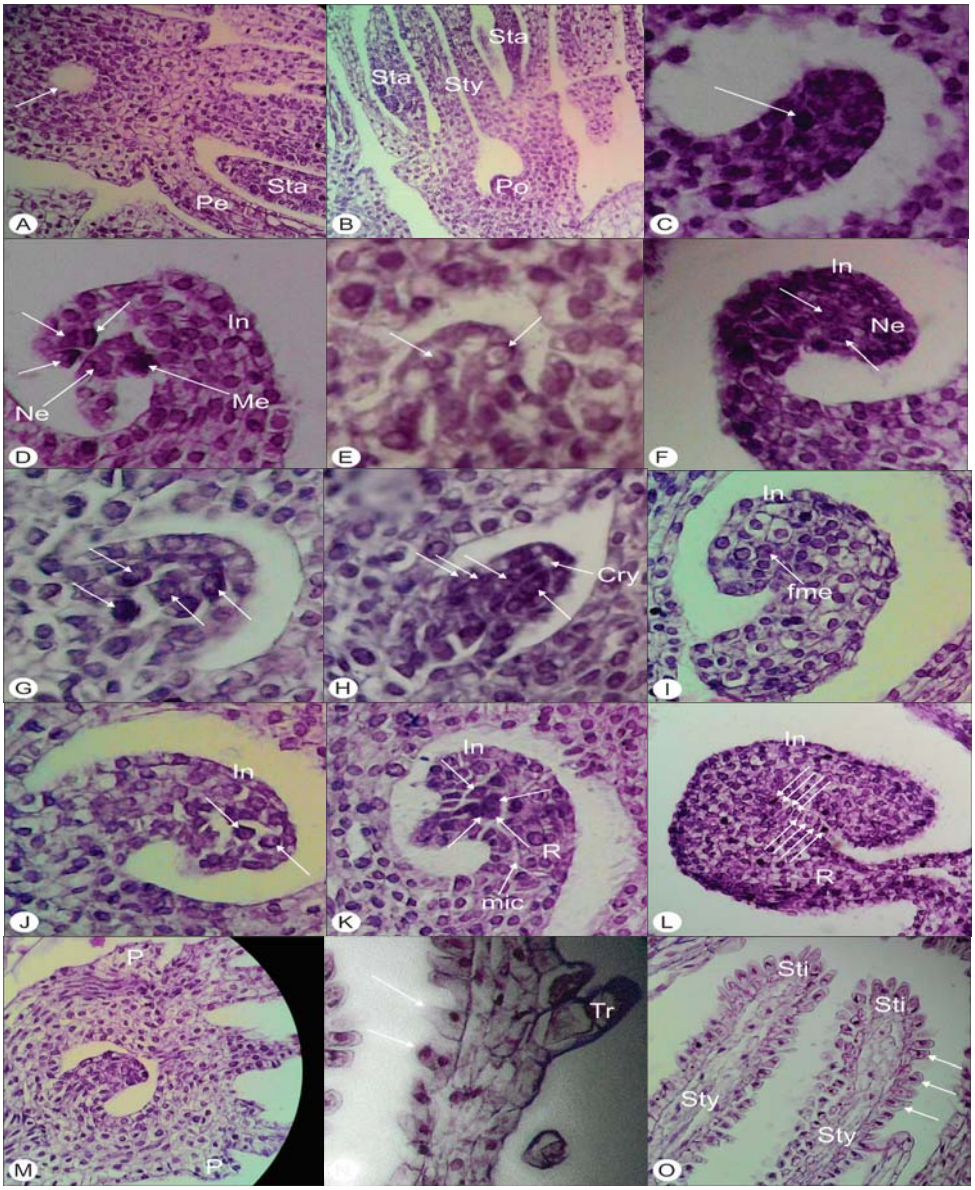
تصویر۳- تکوین پرچم، نمو دیواره بساک و گامتوفیت نر در *Ageratum houstonianum*

A) پرچم‌ها به صورت برجستگی‌های کوچک مریستمی روی نهنج و در زیر پوشش گلبرگ‌ها پدیدار می‌شوند. B) بخشی از گل‌آذین کپه نشان‌دهنده گلچه‌ها و پرچم‌های جدا از هم که در این گونه ۵ عدد است. C) برش عرضی از یک گلچه با پنج بساک تتراسپورانژی. D) برش طولی گلچه لوله‌ای و یاخته‌های آرکئوسپوری با رنگ‌پذیری زیاد قابل تشخیص هستند. E) برش طولی از بساک: یاخته‌های میکروسپوروسیت در مرکز بساک و لایه‌های تشکیل‌دهنده بساک شامل اپیدرم، لایه مکانیکی، لایه میانی و تاپی است. F) برش طولی از بساک در مرحله پروفاز I. G) برش طولی از بساک در مرحله متافازI. H) برش طولی از بساک در مرحله تلوفاز I . I) برش طولی از بساک، دیاد، موناد و تتراد میکروسپور که از نوع تتراهدرال هستند، قابل تشخیص می‌باشند. J) برش طولی از بساک، رها شدن میکروسپورها از تتراد و هسته منفرد در مرکز یاخته قابل تشخیص می‌باشند. K) برش طولی از بساک، میکروسپورها واکوئله شده و هسته آنها به کنار رانده شده است. L) برش طولی از بساک، دانه گرده بالغ و سلول رویشی و زایشی قابل مشاهده و تزئینات سطح اگزین خاردار است. M) برش عرضی از گلچه: شکفتگی بساک و خارج شدن دانه‌های گرده بالغ کروی‌شکل قابل مشاهده هستند.N) دانه گرده دارای سه منفذ رویشی برای خروج لوله گرده است. O) لایه مکانیکی و یاخته‌های آن و کریستال در آن قابل تشخیص می‌باشد. مخففها: Pe: گلبرگ، An: بساک، Ca: برچه، Sta: پرچم، Sty: خامه، Mic: میکروسپور، Cal: لایه کالوز، Te: تتراد، Di: دیاد، Cry: کریستال، Pmc: میکروسپوروسیت، Ar: آرکئوسپور، Ep: اپیدرم، En: لایه مکانیکی، Ta: تاپی، Me: لایه میانی، Po: دانه گرده، Vc: سلول رویشی، gn: سلول زایشی، Ex: اگزین، In: انتین.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی

در گونه مورد مطالعه، پاپیل‌های یاخته‌های اپیدرمی کلاله، سطحی پذیرنده برای دانه‌های گرده فراهم می‌کنند (تصویرO). اولین آثار تشکیل تخمک، به صورت برجستگی کوچک کم و بیش کروی (پریموردیوم تخمک) قبل از اتمام تکوین بخش‌های فوقانی تخمدان، خامه و کلاله، در جدار تخمدان پدیدار می‌شود (تصویر B). بنیان تخمکی، پایه‌گرا و به صورت برآمدگی کوچکی دیده می‌شود. جایگزینی تخمک در تخمدان (تمکن) از نوع قاعده‌ای است (تصویر B). خورش از بخش راسی پریموردیوم تخمکی توسعه می‌یابد. تخمک در گونه مورد مطالعه، از نوع کم‌خورش و اپیدرم خورشی دارای یک لایه یاخته کروی شکل است. تخمک از نوع واژگون و پریموردیوم تخمک، خمیدگی خود را از همان مراحل اولیه آغاز می‌کند (تصویر D). با افزایش میزان خمیدگی ضمن رشد، تخمک به حالت واژگون در می‌آید (تصویر I). در نتیجه بخشی از پوسته به بند متصل می‌شود و رافه را تشکیل می‌دهد (تصویر K). در گونه مورد مطالعه، تخمک تک‌پوسته‌ای است و همانند گونه‌های تیره آفتابگردان با تقسیمات شعاعی یاخته‌های درمی از پریموردیوم تخمک، بنیانگذاری پوسته تخمک در طرفین جسم تخمک و در قاعده خورش به صورت برجستگی‌های چند سلولی صورت می‌گیرد (تصویر K). انتهای آزاد پوسته در حین رشد در قطب سفتی تخمک ایجاد مجرای باریک میکروپیلی یا سفتی را می‌کند که ورود لوله گرده به کیسه رویانی از این مجراست. در تخمک‌های تک‌پوششی، پوسته منفرد سفت را به وجود می‌آورد که در نمونه مورد بررسی، میکروپیل خطی صاف با کمی انحناست (تصویر K). لایه سطحی یاخته‌های خورش، اپیدرم نامیده می‌شود. در گونه مورد مطالعه، این لایه فقط شامل لایه دیواره مگاسپورانژ است که یاخته مادر مگاسپور را احاطه کرده است. به دنبال رشد سریع یکی از یاخته‌های خورش، یاخته‌ای به نام آرکئوسپور تمایز می‌یابد (تصویر C). در گونه مورد مطالعه، تنها یک یاخته آرکئوسپوری وجود دارد که این یاخته به طور مستقیم (بدون تقسیم) به مادر مگاسپور یا مگاسپوروسیت سازمان می‌یابد. این یاخته با حجم زیاد، متراکم و حجیم از سایر یاخته‌های خورش قابل تشخیص است (تصویرD). یاخته مادر مگاسپور رشد می‌کند و متحمل تقسیمات میوزی متوالی می‌گردد که حاصل اولین تقسیم میوزی، تشکیل دو یاخته دیاد هاپلوئید است که به دو صورت عرضی و خطی در مجاور هم قرار گرفته‌اند (تصاویر E و F). در این مرحله رشد پوسته تخمک شاخص است. دومین تقسیم میوزی، موجبات تشکیل چهار یاخته مگاسپور (تتراد) را فراهم می‌کند. آرایش تترادها در این گونه، توده‌ای (تصویرG) و خطی (تصویر H) است. از چهار یاخته حاصل از میوز، سه یاخته قطب سفتی تحلیل رفته و یاخته باقی‌مانده که در موقعیت بنی قرار گرفته، مگاسپور عملکردی یا مادر کیسه رویانی نامیده می‌شود که آغازگر پدیده مگاگامتوژنز است و اولین مرحله از تولید کیسه رویانی هشت‌هسته‌ای است (تصویر I). هسته یاخته مادری کیسه رویانی سه تقسیم میتوزی متوالی را انجام می‌دهد. نخستین تقسیم میتوزی موجب تشکیل دو هسته هاپلوئیدی حجیم (کیسه‌رویانی دوهسته‌ای) می‌شود (تصویرJ). دومین تقسیم میتوزی نیز موجب پیدایش چهار هسته هاپلوئید شده و در نتیجه کیسه رویانی چهارهسته‌ای را به وجود می‌آورد (تصویرK). در پایان تقسیم میتوزی سوم، همزمان با رشد طولی، کیسه رویانی هشت‌هسته‌ای به وجود می‌آید، که در یک ردیف دیده می‌شوند (تصویرL). از ویژگی‌های شاخص گونه مورد مطالعه، کرک‌ها در سطح گلبرگ و کرک‌های ترشحی روی اپیدرم درونی گلبرگ (تصویر N) و حضور کریستال در یاخته‌های دیواره اپیدرم تخمک است (تصویر H).

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی



تصویر ۴- تکوین مادگی، تخمک و گامتوفیت ماده در گیاه *Ageratum houstonianum*

A) توده مریستم مرکزی برای تشکیل مادگی قابل تشخیص است. B) تشکیل پریموردیوم تخمکی در کف جدار تخمدان؛ خامه دوشاخه همزمان با پریموردیوم تخمکی تمایز می‌یابد. C) برش طولی تخمک و تمایز سلول آرکئوسپور در زیر اپیدرم. D) برش طولی تخمک و تمایز مگاسپوروسیت. E) برش طولی تخمک در مرحله دیاد میوز I (↑) و تقسیم عرضی است. F) برش طولی تخمک در مرحله دیاد میوز I (↑) و تقسیم طولی است. G) برش طولی تخمک، آرایش تتراد مگاسپورها توده‌ای است. H) برش طولی تخمک، آرایش تتراد مگاسپورها خطی است. کریستال در سطح اپیدرم تخمک قابل مشاهده است. I) برش طولی تخمک، مگاسپور عملکردی (زایا) در بخش بنی قابل تشخیص می‌باشد. J) برش طولی تخمک نشان‌دهنده کیسه - رویانی دوهسته‌ای (↑) است. K) برش طولی تخمک در مرحله کیسه رویانی چهارهسته‌ای (↑) میکروپیل خطی صاف با کمی انحناست. L) برش طولی از تخمک واژگون در مرحله کیسه رویانی هشت‌سلولی (↑). M) برش طولی گلچه، کاکل فلسی‌شکل قابل تشخیص است. N) کرک در سطح بیرونی گلبرگ، کرک‌های ترشحی روی اپیدرم درونی گلبرگ تشخیص است. O) خامه دوشاخه با کرک‌های ترشحی اطراف آن قابل مشاهده می‌باشد.

مخففها: An: بساک، Pe: گلبرگ، Sty: خامه، Po: پریموردیوم تخمکی، Sti: کلاله، Ar: آرکئوسپور، Me: مگاسپوروسیت ، In: پوسته، Ne: خورش، Cry: کریستال، R: رافه، Mic: میکروپیل، P: کاکل، Tr: کرک. fme: مگاسپور عملکردی.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2

بحث و نتیجه‌گیری

بساک و گامتوفیت نر: نتایج بررسی‌ها نشان داد، که ساختار مریستم رویشی در *A.houstonianum* از الگوی عمومی گیاهان دولپه توصیف‌شده توسط Popham (23) تبعیت می‌کند. مریستم زایشی از مریستم رویشی تحول می‌یابد. فعالیت حلقه بنیادی کاهش پیدا می‌کند، در مقابل فعالیت تونیکا و کورپوس افزایش یافته و تقسیمات میتوزی اوج می‌گیرد و با افزایش سطح جوانه، بنیانگذاری پریموردیوم‌های اعضای گل انجام می‌شود. در *A.houstonianum* ، نمو چهارلایه‌ای دیواره بساک بر اساس تیپ دولپه‌ای انجام می‌گیرد که با نظریه Pullaiah (24) در مورد گیاهان تیره Asteraceae مطابقت دارد. در مرحله اولیه نمو بساک، ردیف‌هایی از یاخته‌های آرکئوسپوری در زیر اپیدرم بساک متمایز گردیده و برای تشکیل یاخته‌های بیرونی (جداری) و داخلی (هاگ‌زا) به صورت مماسی تقسیم می‌شوند. بساک بالغ یک ساختمان تتراسپورانژی دارد. براساس نتایج ما در گونه مورد مطالعه، لایه میانی نمو پیدا می‌کند و بساک دارای چهار لایه است در نهاندانگان، دو تیپ اصلی نمو لایه تاپی بساک قابل تشخیص است (21): ترشحی (جداری) و آمیبی (periplasmodial). در گیاه مورد مطالعه، لایه تاپی از نوع پلاسمودیومی است (16). یاخته‌های لایه تاپی درجه بالایی از پلی‌پلوئیدی را نشان می‌دهند که نمایانگر فعالیت متابولیسم بالای آنهاست که از این نظر مشابه یاخته‌های آنتی‌پود کیسه رویانی هستند (21). درگیاه *A.houstonianum* یاخته‌های اولیه هاگ‌زا که از تقسیمات یاخته‌های آرکئوسپوری حاصل شده‌اند مستقیماً به یاخته-های مادر گرده تمایز پیدا می‌کنند؛ که به صورت دو ردیف در بخش میانی بساک استقرار دارند. گونه‌های معدودی وجود دارند که استقرار یک ردیف یاخته‌های مادر گرده را از خود نشان می‌دهند (19). میوز در هر میکروسپوروسیت منجر به تشکیل تتراد می‌شود. آرایش میکروسپورهای داخل دیواره کالوزی در گونه مورد پژوهش، از نوع تتراهدرال بود. وجود تترادهای تتراهدرال و صلیبی‌شکل نیز در گیاهان تیره Asteraceae گزارش شده است (21). تکوین میکروسپورهای دو کیسه گرده هم جوار به دو شکل هم‌زمان و غیر همزمان امکان‌پذیر است. در گونه مورد مطالعه، تکوین میکروسپورهای دو کیسه گرده هم-جوار، در بیشتر مواقع همزمان می‌باشد. میکروسپورها بعد از آزاد شدن دارای یک سیتوپلاسم متراکم، شکل منظم با یک هسته حجیم قرار گرفته در بخش میانی هستند. واکوئله شدن میکروسپورها بعد از رها شدن تتراد انجام می‌شود. هسته بزرگ هر میکروسپور با یک تقسیم میتوزی و نابرابری که انجام می‌دهد دو هسته نابرابر به وجود می آورد که هسته بزرگ‌تر رویشی و هسته کوچک‌تر زایشی است، بنابراین ابتدا دانه گرده دوهسته‌ای و بعد دانه گرده دویاخته-ای تشکیل می‌شود. دانه گرده در گونه *A.houstonianum* ، به صورت دویاخته‌ای، سه منفذی و با تزئینات سوزنی‌شکل در زمان انتشار است که با گزارشات روی گونه .*Inula aucheriana* DC و *Tajetes patula* (۶ و۷) مطابقت دارد. ضخیم‌شدگی‌های فیبری لایه مکانیکی در مرحله پایانی نمو دانه‌های گرده انجام نمی‌شود، این یافته با گزارش‌های پیشین روی گونه *Hieracium* مطابقت دارد (31).

از ویژگی‌های شاخص گونه مورد مطالعه، حضور کریستال در لایه مکانیکی بساک است (15). از دیگر ویژگی‌های گونه مورد مطالعه، حضور کرک‌های تک‌رشته‌ای، تک-سلولی و بسیار طویل در سطح بیرون گلبرگ و کرک‌های ترشحی روی اپیدرم درونی گلبرگ می‌باشد.

تخمک و کیسه رویانی: نتایج این مطالعه نشان داد در هر تخمدان فقط یک تخمک واژگون، از نوع کم‌خورش و یک‌پوسته‌ای وجود دارد (۲، ۴ و ۵). یاخته آرکئوسپوری یک یا چند یاخته لایه زیر اپیدرمی در منطقه راسی پریموردیومی خورش است که به طور مستقیم (بدون

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2
مقاله پژوهشی

تقسیم) یا به دنبال جدا شدن از یاخته‌های پوششی به یاخته مادر مگاسپور یا مگاسپوروسیت سازمان می‌یابد (۱۰).

موقعیت زیر اپیدرمی یاخته مگاگامتوسیت در سایر گیاهان این تیره نیز گزارش شده است (11). مطالعه روی مگاسپورانژ نشان می‌دهد که آرایش تترادها در این تیره دارای تنوع بسیار زیادی است. در *A.houstonianum* آرایش تترادها به صورت خطی و توده‌ای مشاهده شد. آرایش تتراد خطی و توده‌ای در گونه *Achillea bieberestiniiAfan* و *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. گزارش شده است. در گیاه *A.houstonianum* ، مگاسپور عملکردی (زایا) در قطب بنی که به وسیله دیواره کالوزی پوشیده نشده است، کیسه رویانی هشت‌هسته‌ای را به وجود می‌آورد که بعد به کیسه رویانی بالغ تمایز می‌یابد. سه مگاسپور دیگر در قطب سفتی که به صورت غیرعملکردی هستند، توسط دیواره کالوزی احاطه شده و نهایتاً تخریب می‌شوند. مونوسپوری تیپ پلی‌گونوم که متداول‌ترین الگوی نمونه کیسه رویانی در گیاهان گل‌دار است، در تصاویر مشخص نبود. چون هشت سلول به صورت ردیفی پشت سرهم قرار گرفته بودند.

تشکیل کریستال‌های بیضوی تا چندضلعی در یاخته‌های لایه اپیدرم تخمک، از شاخص‌های ویژه این گونه گیاهی است. تشکیل کریستال‌های بیضوی تا چندضلعی در قسمت بالایی دیواره تخمدان در گیاه *Anthemis odontostephana* *Boiss.* Cv. Odontostephana گزارش شده است (۵).

براساس مطالعات مرجع‌شناختی ما، اگرچه گونه‌هایی از گیاهان تیره آفتاب‌گردان از نظر تکوین پرچم و تخمک مورد مطالعه بوده‌اند، ولی گزارش حاضر اولین گزارش در مورد توصیف دقیق مراحل تکوین میکروگامتوفیت و مگاگامتوفیت گونه *Ageratum houstonianum* می‌باشد.

منابع

۱- باتی‌گینا، تی. بی. (۱۳۸۷). رویان‌شناختی گیاهان گل‌دار. ترجمه رضانژاد، ف. و چهرگانی راد، ع. انتشارات دانشگاه شهید باهنر، کرمان.

۲- بقایی‌فر، ز. مفیدنیا، م. چهرگانی‌راد، ع. (۱۳۹۵). میکروسپورزایی و مگاسپورزایی در گیاه شکرتیغال (*Echinops ilicifolius* L.) مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران)، جلد ۲۹ (۴): ۳۵۸-۳۴۹.

۳- چلبیان، ف. محمدی، م. (۱۳۸۶). بررسی ویژگی‌های تشریحی و کشت بافت گیاه *Ageratum houstonianum* (گل ابری یا ابر آبی). مجله علوم دانشگاه آزاد اسلامی، شماره ۶۶: ۹۴-۸۴.

۴- چهرگانی‌راد، ع. محسن‌زاده، ف. صالحی، ه. (۱۳۹۰). مطالعه تکوین اندام‌های زایشی (پرچم و تخمک) در *AchilleabieberestiniiAfan*. فصلنامه علمی پژوهشی، زیست‌شناسی تکوینی، سال سوم، شماره ۱۰: ۷۴-۶۳.

۵- چهرگانی‌راد، ع. محسن‌زاده، ف. غفوری، س. (۱۳۹۳). مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Anthemis odontostephana* Boiss. Cv. . مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، جلد۲۷، شماره۴: ۵۵۶-۵۴۴.

۶- چهرگانی‌راد،ع. حاجی‌صادقیان،س. محسن‌زاده، ف. (۱۳۸۹). مطالعه مراحل تکوین دانه گرده و تخمک در *Inula aucheriana* DC. . زیست‌شناسی گیاهی، سال ۲، (۶): ۲۸-۱۵.

۷- رضانژاد، ف. مجد، ا. (۱۳۹۱). تکوین گل‌آذین، گل و گرده در گل جعفری (*Tajetes patula*) ویژگی‌های ساختاری گل در ارتباط با گرده‌افشانی. زیست‌شناسی گیاهی، سال ۴، (۱۲): ۶۶-۵۱.

۸- محتشم‌نیا، س. برجیان، ا. (۱۳۸۸). بررسی مشخصات سیستماتیک خانواده گیاهی کاسنی (Asteraceae) مجله اکوفیزیولوژی گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان. سال ۱، (۲): ۸۰-۶۴.

9- Batygina, T. B. (1987) Embryology of flowering plants: terminology and concepts. Science Publishers, New York.

10- Bouman, F. (1984). The ovule. In Embryology of Angiosperms, B.M. Johri, ed (Berlin: Springer-Verlag). pp. 123-158.

DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2 مقاله پژوهشی

11- Chehregani, A., Mehanfar, N. (2008). New chromosome counts in the tribe Anthemideae (Asteraceae) from Iran. Cytologia, 73: 189-196.

12- Cichan, M. A. and Palser, B. F. (1982) Development of normal and seedless achenes in *Cichorium intybus* (Compositae). American Journal of Botany 69: 885-895.

13- Davis, G. L. (1964) Embryological studies in the Compositae. IV. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny in *Brachycome ciliaris* (Labill.) Less. Australian Journal of Botany 12: 142-151.

14- Davis, G. L. (1968) Apomixis and abnormal anther development in *Calotis lappulacea* Benth (Compositae). Australian Journal of Botany 16: 1-17.

15- Franca, O. Paula, O. Oliveira, R. Marzinek, J. (2015). Embryology of *Ageratum conyzoides* L. and *A. fastigiatum* R.M. King & H. Rob. (Asteraceae) Acta Botanica Brasilica 29(1): 8-15.

16- Gotelli, M. M., Galati, BG and Medan, D. 2008. Embryology of *Helianthus annus* (Asteraceae). Ann. Bot. Fennici. 45: 81-96.

17- Harling, G. (1951) Embryological studies in the Compositae: Anthemideae -Chrysantheminae. Acta Horticulture Bergiani 16: 1-56.

18- Hind, D. J. N., Jeffrey C. & Pope G. V. (eds.) 1995. Advances in Compositae systematics. - Royal Bot. Gardens, Kew, 25: 235-236.

19- Hu, S.Y. 1982. Embryology of angiosperms. High Education Press, Beijing, p 30 (in Chinese).

20- Johri BMK, Ambegaokar B, Srivastava PS. 1992. Comparative embryology of angiosperms, vol 2. Berlin, Springer-Verlag.

21- Maheshwari, P. (1950). An Introduction to the Embryology of Angiosperms. (New York: McGraw-Hill).

22- Pandey, B. P. (2001) A textbook of botany, Angiosperms. Taxonomy, Anatomy, embryology (including tissue culture) and economic botany. McGrew Hill, New York.

23- Popham. R. A. (1951). Principles types of vegetative shoot apex organization in vascular plants. The Ohio Journal of Science, 51: 249-27.

24- Pullaiah, T. (1979) Embryology of *Adenostemma, Elephantopus* and *Vernonia* (Compositae). Botanisca Notiser 32: 51-56.

25- Quijano, L., Calderon,J.S., Gomez, F. and Rios, T., Phytochemistry, 24, 1085 (1985).

26- Richards, A. J. (1997) Plant breeding systems. Chapman and Hall, New York.

27- Shamrov, I. 1998. Ovule classification in flowering plants- new approach and concepts. *Botanische Jahrbucher fur Systematik*., 120: 377-400.

28- Valles, J., Garnatje, T., Garcia, S., Sanz, M. and Korbkov, A. A., 2005. Chromosome numbers inthe tribes *Anthemideae* and *Inuleae* (Asteraceae). Kazakhstan. Bot. J. of the Linnean Society, 148: 77–85.

29- Watanabe,W. (2002) Index to chromosome numbers in Asteraceae. Retrieved from http://www-asteraceae.cla.kobe .ac.jp/index.html. On: 15 August 2008.

30- Yeung, E. C. (1984). Histological and histochemical staining procedures. In: Cell culture and somatic cell genetics of plants (ed. Vasil, I. K.) 689-697, Academics Press, Orlando, Florida.

31- Yurukova-Grancharova, P., Robeva-Davidova, P. and Vladimirov, V. 2006. Study on the embryology and mode of reproduction of selected diploid species of *Hieracium* (Asteraceae) from Bulgaria. Flora. 201: 668-675.

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832592.1401.35.3.14.2

Study of Microgametophyte and Megagametophyte Development in *Ageratum houstonianum* Mill.

Baghaei Far Z.[1], Hosseini Nia S.E.[1], Mehr Afza A.[1], Khodaei L.[2] and Ghadir Poor F.[1]

Dept. of Biology, Faculty of Science, Payame Noor Univercity, Tehran, I.R. of Iran.

Dept. of Agriculture , Payame Noor Univercity, Tehran, I.R. of Iran.

Abstract

The present research aims to study pollen grain and ovule development in *Ageratum houstonianum.* It can be suitable pattern for several species of capitulum inflorescence. The flowers and buds in different developmental stages were harvested, fixed in FAA70, stored in 70% ethanol, embedded in paraffin and sectioned with a thickness of 5-7 µm by microtome. Staining was carried out with Eosine and Hematoxylin. Then slides were studied using light microscope and were photographed. Results indicated that bisexual florets, consist of five stamens with free filaments and apart from each other. Anthers are tetrasporangiate and development of anther wall is of dicotyledonous type and composed of one-layered epidermis, an endothecium, one middle layer and tapetum. the tapetum was plasmodial. Microspore tetrads are tetrahedral. Pollen grains porous with echinate sculpturing, at the shedding time. Ovule was anatropous, unitegmic and tenuinucellate. Cell division of megaspore mother cells is of both longitudinal and transverse type and resulted in linear or massive tetrads formation. As result, the polygonum type was not clear. Results of this research showed the presence of crystals in the endothecium layer epidermal cells of ovule, that was species specific characteristic. Secretory (papillate) epidermis on the adaxial surface of petals, and long, filamentous, one-celled trichomes on the outet surface of petal were visible.

Key words: *Ageratum houstonianum,* Asteraceae, Ovule, Megasporogenesis, Microsporogenesis, Tapetum